Flash Notes

Microbiology | Chapter 18

Acid fast bacilli

عائله ال mycobacterium وهى العائله اللى بتشمل على members اسمهم

Acid fast bacilli

اتعودنا فى كل genus نبدأ بال general characteristics

سؤال اهو ايه هى ال genera features بتاعه عيله ال Mycobacterium ؟؟

١- Acid-fastness يعنى ايه ؟نفهمها كويس ونشوف ايه سببها

عيله ال Mycobacterium عباره عن bacilli ال wall بتاعها فيه ظاهرتين مهمين

١-layer of peptidoglycan تشبه ال gram positive bacilli طبقة سميكه .

40 sheet زى الوصف اللى اخدناه زمان فكان مفترض لو صبغت بال gram تاخد الصبغه ،

بس لقينا ظاهره غريبه مبياخدش الصبغه بسهوله قعدنا ندور ليه .

٢- لقينا وجود layer اخرى غنيه بال lipids المنطقه دى فيها high lipid content

تبقى عامله زى الشمع كده ..هل ف مايه تخترق الشمع ؟... لا
حتى كانوا بيسموها زمان wax layer

يبقى صعب صبغه عاديه تعدى من الشمع او ال lipid ده و ده يمنع ال organism من انه يتصبغ بال gram stain احط ال methelene blue مايعملش حاجه ، احط ال alcohol مايعملش حاجه ، احط carbon fucin المخفف مايعملش حاجه وفى الاخر يبان unstained يبقى ماتصبغش بال gram علشان كده ماقدرش اقول عليه gram positive ولا gram negative

فى واحد من تلامذه gram لقط الفكره بس قال هنعمل عليها شويه modification فقال هعمل ايه ؟

١- احط صبغه مركزه
٢- واسخن لعل التسخين يسيح شويه ال lipids يقوم يسمح للصبغه بالاختراق
٣- مسيب ال stain فتره طويله على الorganism .

يبقى عملو ٣ تعديلات ع فكره الصبغه الاساسيه بتاعه gram .

VISIT…

LANZAROTE

Caliente.COM

يبقى لما احط الصبغه بتركيز عالى واسخن وأسيبها فتره هيحصل ايه؟

هتصبغ بصعوبه ال fuccin ده لونه ايه؟ احمر يبقى ال organim هياخد اللون الاحمر واى حاجه حوالين ال organism تاخد اللون الاحمر

ولما جينا نجرب نشيل اللون، نشيله بحاجات قويه ال alcohol مثلا ، لقينا ال organismمافقدش اللون تدرجنا وبقينا نحط H_2SO4 وبرده ال oraganim مازل محتفظ بلونه؟ وكان ال organism فكر الفكر الاتى ف حكمه او مثل بتقولeasy come, easy go .

اللى سهل صبغته سهل يفقد صبغته لكن hard come , never go .

يعنى مايحسش بقيمه الشئ غير اللى تعب فيه،فاللى تعب علشان ياخد اللون الاحمر(صبغه مركزه ولمده طويله وتسخين)لما اجى اشيل الصبغه يقولك وهو انا عبيط اشيل الصبغه علشان يرجعو يصبغو فيا تانى والله مانا سايب الصبغه . يبقى هو كدا بيقاوم ال decoloration بتاع ال acid .

كان واحد قاوم الاحساس بالجوع،قاوم الرغبه ف الاكل(انك تصوم) فراحو مسمينه fast ودى معناها يعنى بي resist ...يresist ايه ؟؟؟

بresist ال acid فراحو مسمينه Acid fast organism يقاوم ال decolourization بال acid وبال alcohol كمان، دايما ف الاخر بحط differential stain فراحو حاطين methylene blue عمل ايه؟

يبقى ال organim ببان ايه لو صبغته بالصبغه دى ziehl neelsen ؟

يبان bacilli حمرا ع خلفيه زرقه .

الفكره ايه صبغت ب ziehl neelsen ال organismخد اللون الاحمر فى الخطوه الاولى لانى سخنته وعذبته ودخلت الصبغه غصب عنه ولانه علشان اتعذب علشان ياخد الصبغه فمارضيش يفقدها واحتفظ باللون الامر انما اى حاجه ف ال back ground يحصلها decoulerization .

ولما احط ال methelene blue فى الاخر ال background زرقه.

السؤال فى الحته دى ييجى يقولك

Explain why???

Mycobacterium is Acid fast?

علشان ال cell wall .... rich in lipids..اللى يتخليها تresist الصبغه(gram) بسهوله .

ال feature التانيه فى العيله انها slow grower ودى مش غريبه عليكو عملتلكو عليها مساله الترم الاولانى .

يعنى ايه generation time?

Time between 2 successive cell divisions

يتراوح من ربع ساعه فى البكتيريا المعاديه الى ٢٤ ساعه فى الـ T.B يبقى لو عندى بكتيريا من T.B واحده ووزعتها تبان colonies بعد اد ايه؟هى المفروض بتدى الـ colonies بعدكام devision ؟

٣٠_٢٠ يبقى محتاجه ٣٠ او ٢٠يوم علشان تبقى colonies .

من هنا عليه الـ mycobacterium عندها slow rate growth نتيجه long generation time وده سؤال اخر......

Give reason????

وده خلانا نقسم العيله slow grower بشكل مطلق واقول ان دول بيحتاجو more 7 days علشان يدونى visible colonies

امال اللى بـ grow فى اقل من اسبوع اقول عليه ايه ؟rapid grower ع فكره rapid grower دى خادعه لان بعضكو ممكن يفتكر انها rapid زى البكتيريا العاديه .

ده rapid grower relatively محتاج ٦ ايام مثلا علشان يـ grow هو برضو slow grower بس مقارنه باللى يـ grow فى اسبوعين او تلاته فهو يعنى grow rapidly

الـ character الخيره ان الـ organism ...obligate aerobes
ودى تفتكرها ازاى ؟
اشهر منطقه بيعمل فيها infection هى منطقه الـ lung وبيعمل pulmonary T.B حيث الهواء الطلق
ودى هاستخدمها فى الـ MCQ .

ادى الـ general character بتاعه العيله دى
تروح بقى الـ members بتوعها قسموها .4 groups

1 – mycobacterium T.B complex (tubercle bacilli)

وهى الـ bacilli اللى ليها القدره انها تعمل disease اسمه tuberculosis
Which characterizer by tubercle (granuloma formation).
ودى فيها الـ 4 members
m.tuberculosis وزمان كانو بيسموه الـ human type .
M.bovis وزمان كانو بيسموه الـ bovin type
M.africanum _ M.microti
كلهم او ايا منهم قادر انه يعمل tuberculosis فيها characteristic lesion اسمه tubercle سواء فى البنى ادمين او الـ animal .

المجموعه التانيه مابيعملوش نفس ال pathology(tubercle lesion) وسميناهم NTM (non tuberculous mycobacterium) .
يعملو حاجات تانيه غير الت tubercle lesion النموذجى يعنى ممكن يعملو ulcer مثلا .

٣ -mycobacterium lebrae بيعملو مرض ال leprosy مرض الجزام .

٤ -Saprophytic mycobacterium بيعيشو free living فى الهوا وال soil والمايه وبيبقو rarely يعملو disease وده فى الناس immune deficient or immune compromised

نروح لا member اللى تفاصيله تهمنى جدا اللى زمان كانو بيسموه human type اللى بيعملى tuberculosis السل او الدرن .

نبدا الحديث عن ال morphology

١ -لسه عارفين من شويه ان عليه ال mycobacterium دى Acid fast
اوعى تسرح فى الامتحان وتكتبلى gram positive or negative .
رفيعه تقدر تستخدم كلمه من تلاته clinder, thin,delicate
طيب اتفقت معاك من شويه فى الziehl – Nelsen انى بصبغه بصبغه حمرا واجى اشيل الصبغه resist decouloration علشان كده اسمه Acid fast بعد كدا احط صبغه تانيه زرقه فتصبغ ال serounding background فهتظهر ازاى؟Red bacilli in blue background
فيه صبغه تانيه اسمها flurecent stainو fluro chrome stain او auramine_rhomine .
لو حطيت ال fluorescent بالعافية بالعافية تقوم تاخد ال flurecnt stain تيجي تشيلها تلاقيها بتقاوم ال decolorization يبقي هو appear ايه لو سلطت عليه uv هيظهر فيه وميض فيه flurecence orange bacilli in black background
لو كان ال organism مزروع ع fluid media وأخدت منه film هلاحظ إيه؟ هلاحظ إن ال bacilli شبكت في بعض وعلمت حبل معرج كدة زي بتاع الزواحف اسمه serpentine cords وده سؤال، علل ال mycobacterium عملت growth ع fluid media
هتديني شكل حبل serpentine cords؟ لإن عندها cord factor هنتكلم عليه دلوقتي في ال virulence factors يعني ال bacilli يمسك في بعض فتبان حبل ملولو.

Morphology

ال morphology←acid fast bacilli
بصبغهم بصبغة من الأتنين، صبغة عادية اسمها Ziehl-Nelseen فيبان pink bacilli with blue background أو fluorescent stain يبان orange flurecent with black background هنا بتفرج بالميكروسكوب العادي وهنا بنتفرج بـ ميكروسكوب بـ UV، لو عملت فيلم من fluid culture ده بيشجع ال bacilliإنهم يمسكوا في بعض ويدوني serpentine cords
ودايما ف فوليوم ٢ افتح الأطلس وانت بتذاكر
وال slide ده يخليني أقولك هدية في العملي، لو لاقيت ال background زرقة يبقى عندك إحتمالين TB

أو leprosy والأتنين بـ Ziehl-Nelseen لإني مبستخدمش الأزرق في ال gram.
بص ع ال bacilli لو لاقيتها متفرّطة يبقى TB لو لاقيتها متجمعة وعاملة bundle أو جروب يبقى ده leprosy متجمعة كإنها خلية،
خلي بالك إن في ال fluorescent stain لازم تستخدم UV microscope والجزء المصبوغ بس هو اللي بيان fluorescent والباقي أسود لإنها invisible.

Culture characters

قولنا إن ال organism ده aerobic ومحتاج special media عشان يـ grow طيب ليه؟
لأن عايش معاه other organisms يعني هو دلوقتي عايش في ال lung لما يجي المريض يكح ويجيبلي ال sputum هلاقي فيه
TB bacilli & other flora، بزرعهم ع enriched media هتحتاج وقت طويل up to 8 weeks عشان تـ grow
طيب لو شبهت ده بني آدم بياكل ويمضغ ع مهله فين وفين تلاقيه بياخد لقمة، إنما واحد مفجوع زي ال flora بيـ grow كل ربع ساعة مين هيستهلك ال media بسرعة؟flora ، فمتلاقيش ال TB أي media كفاية تتغذى عليها فمايحصلش grow
عشان كدة محتاج specified media.

طيب تفتكروا المفروض تبقى characterized بـ إيه؟ selective
ال media اللي اسمها lowenstien-jensen medium دي media فيها بيض مضروب، ال organism بيحب البيض ودي تعتبر rich لإنها غنية بـ biological nutrient protein والبروتين بتاعه البيض هتدي قيمة غذائية عالية لل organism، طب ما هي هتدي القيمة العالية دي برضو لل flora عشان كدة أروح حاطط صبغة اسمها malachite-green dye بضيف ال malachite
دي لإنها toxic لل respiratory flora وتمنع ال flora إنها تـ grow ولكنها بتسمح لل TB بالنمو عشان كدة يسميها selective

أوريك شكل ال media عشان مهمة جدًا بإسئلتها في العملي والشفوي، media لونها أخضر أهي محطوطة في tube صغيرة مقفولة بـ cap أو محطوطة في أنبوبة طويلة مقفولة بـ rubber سدادة مطاطية، ال solid media بدليل إنها واقفة أهيه slope
في الشفوي ممكن أديك الإزازة دي وأسألك دي ايه؟ lowenstein Jensen medium ونوعها ايه؟ selective media
إزاي؟؟ بإضافة ال malachite dye أو هو ده اللي في ال medium أو إنه إتحقن.

السؤال اللي هسألهولك ال medium ده solid صح؟طب إيه اللى خلاها solid ؟؟ هل بإضافة ال agar؟ لأ.
هرجع للكلمة دي egg based لما تمسع الكلمة دي تعي إن ال egg هو ال enrich لل organism وهو ال solidifying agent
يعني بعض ما أحضر البيضة لو سخنتها هتجمد، زي البيضة لو سبقتها هتتجمد، ال egg prt هيحصله heat coagulation

حاجتين بس من أول السنة سمعناهم بيُستخدم فيهم البيض عشان ال solidification

1) Mycobacterium “”Lowenstein Jensen medium”

2) Diphtheria “Loffler’s medium”

نفس الفكرة لإن Loffler’s ده serum وال serum فيه prt ف لو سخناها هتتجمد heat protein coagulation خلي بالك إن ده سؤال شفوي

فيه medium تانية اسمها middlebrook’s medium

فكرتها عجباني أوي تحس إنك داخل فندق five stars وطلبت شاي ف من الإتيكيت يجيلك براد الشاي والسكر برة زى ما بنقول ف القهوة ولبّانة كدة فيها حبّة لبن ويقولك أتفضل، الراجل اسمه middlebrook عمل كدة جاب enriched media في صورة شوربة، قالم عايز تزرع ال TB ع media fluid عشان تشوف ال serpentine cords طيب أهي في صورة شوربة ”fluid”‘ ولو عايزها solid أبقى كل شوية أجار وجاب شوية antibiotic، عايزها تبقى selective حط antibiotic.

عمل فكرة عشان تبقى ٤ إحتمالات، middlebrook’s broth عشان تبقى fluid حط حبّة antibiotic يقلب fluid بس selective، حط أجار من غير antibiotic يبقى solid & enriched

حط أجار و antibiotic يبقى solid & selective، تاني الراجل جاب شوربة لوحدها و أجار لوحده و antibiotic لوحده وقالك حط بقى أنت،

أفتكر إن ال occupation period بتراوح من أسبوعين ل ٨، من الصفات العامة اللي قولناها في الأول إنهم slow grower بيحتاجوا وقت أطول عشان ي grow.

أقولك خطأ شائع في الأسواق وأنت لو دكتور شاطر تعرف تلقط العامل بتاعة بير السلم، لو أنت بعت مريض شاكك إنه عنده TB وراح المعمل وأداهم sputum sample وبعدين يومين جالك بالنتيجة؟ أعرف إن المعمل ده أي كلام ع طول، ماعندوش المعلومة دي إن ال TB بيحتاج at least 2 weeks عشان ال colonies تبدأ تبان، ما هو لازم يبقى negative بعد يومين

لازم أستنى من أسبوعين ل تمنانية والحل ايه؟ أخد اسم المريض ورقم المعمل واتصل بيهم بعد أسبوعين لو لسة مظهرش أفضل أتابع معاهم كل شوية بردو كل أسبوع.

واحد يقولي وأنا هستفيد إيه؟ من كل ده؟ ده أنا مش ناوي أطلع دكتور معمل، خلاص يا عم خليك في عيادتك بس تبقى عارف لو بعت المعمل النتيجة دي صح ولا غلط أدي فايدة المعلومات ال clinical.

كل ال mycobacterium ممكن تنمو ع ال media دي، أفرّق إزاي بينهم؟ أهو ال TB mycobacterium بالذات can be distinguish from other members by chemical reactions

حيث إن ال mycobacterium TB produce niacin اللي هو vitamin B component

بت reduce ال nitrate ل nitrite

وبت produce catalase، طيب ما أغلب البكتريا بت release catalase

أفرّق بينهم إزاي؟ إن ال catalase هنا heat sensitive لكن باقي ال catalases بتبقى heat resistant

وممكن أعتمد ع ال DNA props في التمييز بين mycobacterium وال other members

طيب تركيبة ال cell wall زي ما قلت لكم في المقدمة، أدي ال TB bacillus عنده طبقة من ال peptidoglycans تشبه بتاعة ال gram positive بالضبط ، لكن يضاف اليها طبقة عينة بال lipid اهمها واشهرها ..

١- Mycoic acid اللي هوا long chain fatty acid بيتراوح عدد ال carbons فيها من 60-90 C ودي المسئولة عن ال acid fast-ness اللي بيقاوم ال effect of the acid اثناء الصبغة .

٢- ال cord factor اللي قولنا عليه من شوية اللي بيخلي ال bacilli تشبك في بعض وتديني منظر الحبل المعرج Serpentine cord .. طيب ده شكله انت بتذكرهولي دلوقتي في تركيبة ال cell wall ليه ؟

- واحد من ال virulence factors ← بيمنع ال leukocyte migration

انتو عارفين لما بيحصل inflammation ال leukocyte بت migrate ناحية ال inflammation وده بي diffuse عشان يمنع ال leukocyte لمكانه وحتى لو وصلته وبلعته يروح مبوظلها الميتوكوندريا عشان ميبقاش فيه energy production ومتبقاش activated ويبوظ ال respiration بتاع ال phagocytic cells اللي بيبلعوها.

٣-←Mycobacterium Sulfolipid ده بي inhibit phagolysosome formation .

يعني دول virulence factors وبيمنعوا ال organism انه يحصله intracellular killing وممكن يعملوا damage للخلايا ؟ نعم .. يعني ال T.B. عنده virulence factors ؟ اه

يعني لما ناس تدخل في المناهج وتقولك ان ال T.B. معندوش virulence factor ولولا ال hypersensitivities مكانش هيبقى في اعراض ..نقولهم سوري بقى خليكوا في منهجكو ..

طب هات واحد كده عنده immunodeficiency وحط جواه T.B. هيحصله حاجة اسمها disseminated miliary TB ويموته fatal ..

طب ازاي والimmunodeficient ده لا عنده immunity ولا hypersensitivity ؟ اللي عنده AIDS لما جهاز المناعة بتاعه يضعف يجيله opportunistic bacteria زي الT.B يقضي عليه .

طيب هيموت المريض ازاي وهوا معندوش hypersensitivity ؟

الhigh lipid content في الwall بيخلي للبكتيريا ٦ حاجات ودول موضع سؤال في الامتحان :

١- Impermeable to stain : ال stain متعملش penetration فأصبح مصبغش بالصبغات العادية زي الZiehl Nelseen stain or flurecent

٢- Resistant to dryning : ودي حاجة خطيرة جدا بتساعد في انتشار الT.B ، اللي عنده T.B. بيكح مثلا وبيspell الsputum بتاعه في الارض ويقدر الorganism يتحمل الdryness لمدة اسابيع ، يجي واحد يكنس الارض يقوم يتطاير في الهواء وانت تستنشقه ، يعني مش لازم تكون في مواجهة المريض عشان تتعدي وانت ممكن يكون فات ايام على ان المريض عدى وانت تتعدي
ف عشان كده الmode of infection مش هنقول droplet infection لكن هنقول air borne infection يعني ما يحمله الهواء مما تبقى من الdroplets .. كونه يتحمل الdryness يخليه يعدي في غضون اسابيع وينتشر ويعدي ناس بعيدة .

٣- Resistance to many antibiotics : ال cell wall مليان lipids هيخترق ازاي ده مش بس مليان lipids ده محاوط نفسه بـ caseous material زي ما هنشوف في الpathology بتاعه ، مما يجعل

وصول الantibiotics ليه صعب ولو وصلت صعب تدخل جواه .

٤- Resist acidity & alkalinity :وهستغل دي في الdiagnosis كنوع من ال selection لو عندي sputum فيه T.B و other flora اعمل ايه عشان اموت الfloral من غير الorganism ؟ احط acid or alkali selection ، يموت الفلورا إنما ال TB يـ resist الأسيد والألكالي

٥- Resist lysis by complement
لأن ال MACميقدرش يخترق ال cell wall نظرا لل high lipid content

٦- طب ولو اتبلعت؟؟ متتهضمش ، يبقى هيقاوم ال intracellular killing جوا ال phagocytic cells

susceptibility of physical and chemical agents

- latent infection لانه يبقى مش فاتح على حاجة في الجسم زي bronchus.
- طيب و ال infectivity مين اللي هيعدي غيره ال case اللي عنده open pulmonary T.B هو اللي يعدي.
لكن الشخص اللي معندوش open اللي هو latent ومش هيعدي حد
- طيب الdefinition مين اللي هسميه case ومين اللي مش هسميه ؟
الpulmonary T.B هو اللي هسميه case، لكن الlatent مش case طب هسميه carrier ؟
لأ برضو ولا carrier ليه ؟ علشان مش بيعدي
طول ماهو في الوضع ده مش اسمه case ولا اسمه carrier اسمه latent T.B infection
تلاقي حاجات حوالين الorganism تخلي الجو ليه مش مناسب، نمرة واحد وجود immune responseو cytokines.. اثنين اللمة اللي حواليه قلت ال aeration اقل يعني فيه hypoxia وبعدين وهو بيـ replicate بيطلع metabolites في المكان بتخلي الجو مع مرور الوقت مش مناسب فيبقى dormantويقلل الreplication بتاعه لما المناعة تقل هو بينشط بقى يتحرر من الكلا

الorganism ده عدو للheat عدو للحرارة عايز تموته سخنه الT.B اكل ليه التسخين بصوا بيموت بالheat اذا اتسخن عند درجة 55c لمدة ساعة يموت من الغليلن يموت بالautoclaving يموت بالpasteurization عشان كده بيعملوا بسطرة للبن و يموت لو اتعرض للsunlight.

طيب في التراب هيتحمل الجفاف ولا الsun light تموته؟

انت هتحسبها بقى هو في organic material عمله له حماية من الsun light و لا exposed مباشرة للsun light و exposed قد ايه و الsample اللي حواليه dry ولا ايه؟ هى عبارة عن combination تخليه يتحمل انه يبقى موجود في الsoil بعد ما يبقى discharged من المريض.
برده ممكن أقضي عليه بintermediate level disinfectant و ديه معلومة اخدناها حتى كنا بنستخدمها كاindicator يميز بين الlow level disinfectant و اللي فوقه ليه ٥ لان لو حبت disinfectant جديد بستعمله لاول مرة و عايز اعرف مستواه لو حطيت الdisinfectant على T.B اتقتل يبقى ده intermediate او high disinfectant.
بيsurvive for weeks و ديه معلومة كنت قلتها من شوية الdry samples يعني لو حصلهم dry في الsputum اللي هوى smeared على الملابس او على الdust.
بيتحمل الacidity و الalkalinity و زي مقولتلكم استغلينا ديه في اني ممكن اعمل نوع من

الselection اثناء لما بزرع الorganism زي ما هنشوف حالا.

طيب نهدي و ناخد break ناخد فيه شوية اسئلة سريعة.

الorganism in ### which appear red in ziehl-neelsen stain is:

diphtheria , T.B , bacillus anthracis ,

M tuberculosis can be isolated from sputum of patient with T.B by culture on:

-Bl. Agar -Loffler'smedium -Bl. Terullitemedium -lowenstein-jensen medium

يا ترى الM.tuberculosis :

resist heat , anaerobic , grow rapidly , spore forming , containing mycolic acid

نمسك واحدة واحدة: قصة الspores مفيش ولا عائلة في الكتاب و spore forming الا chapter 7 فقط كل الothers في هذا الكتاب non spore forming قانون اهو، يا ترى بresist heat هنا قايلين ان ده عدو الheat هو الheat اللي بيخلصني منها يبقى مش بيقاوم الheat، يا ترى rapidly growth؟ ده هو من صفاته انه slow grower علشان يعمل grow بياخد من اسبوعين لثمانية ، الanaerobic قلتلك هيضحك عليك و يقولك anaerobic في الصفحات العامة مكتوب obligate anaerobe افتكر يا اخي انه بيعيش في الlung افتكر انه بيعمل pulmonary tuberculosis يبقى يحتوى على mycotic acid ده صفة من صفاته اللي موجودة في الcell wall و ده سبب انه ايه بقى؟ انه acid fastness

Which of the following contribute to disease production by mycobacterium bacilli?

يا ترى ايه السبب اللي يخلي الM.bacilli تعمل disease؟

mycotoxin production , slow grower , cell wall component , spore size , →dependence of oxygen cell wall components لاننا لاحظنا انهم فيهم virulence factor فيهم اللي بيمنع phagosome formation و فيهم اللي بيمنع mitochondrial respiration و فيهم اللي بيمنع الmigration of leukocytes.

عشان كده هما اللي مسئولين عن عملية disease او بيشركوا فيها.

الMycobacterium cell wall are characterized by:

Capsule ,repeated polysacc. (walls) ,mycolic acid Phospholipia، ولامش عرفة ايه كده.

واحد عنده ٦٠ سنة بيشتيكي من chronic cough and bl. Sputum الdiagnosis وضح ان عنده T.B بعد الculture لاحظوا ان فيه serpentine like colony morphology.

اخر ملحوظة ده is caused by which of the following؟ يعني ايه سبب الserpentine appearance اللي انت شفتها؟

Endotoxin, cord factor, large capsule, coagulase

تعالى بقى نروح للT.B كdisease و نشوف ايه اللي بيعمله

T. B يعتبر واحد من major cause of death في العالم كله.

الno. Of cases زمان لما لقوا علاج للT.B و عملوا مستشفيات للدرن ؛ مستشفى الامراض الصدرية في مصر مستشفى امبابة و مستشفى في العجوزة و مستشفى في العمرانية و مستشفى في العباسية و مستشفى في الحلمية الجديدة كل دول اسمهم مستشفى الصدر و كانوا بيحجزوا فيها مرض الدرن و

يعالجوا الناس و كان المريض يدخن و يخرج و عدد مرضى الT.B كان بدأ يتناقص في العالم كله بصينا لقينا مرة واحدة ان عدد المرضى بدأ يزيد في الاونة الاخيرة و ده بسبب AIDs pandemic ظهور مرض الAIDs و تفشيه من بداية الثامنيات خله حالات الT.B تزيد.

مشكلة اخرى T.B لما كش و انحصر و علاجنا ه بالantibiotics اللي استنى و مماتش اصبح antibiotic resistant.

فضلي انواع تانية من الT.B دلوقتي بقت مضاعفة يبقى واحد نقص المناعة بين الناس نتيجة للAIDs اتنين الT.B نفسها بقت multidrug resistant.

تعالوا بقى نشوف القصة ازاي و نجاوب على اسئلتكم لاني عارف ان الT.B وصلكم بكذا version ، الmode of infection هيبقى airborne او بين قوسين (aerosol) و مقلتش droplet و ليه بقى مش droplet واللى يقولك droplet يبقى عنده خطأ شائع بص كده هوريك صورة الاول.

البني ادم اللي بيكح ده مدام شفته بعينك يبقى اسمه droplet و الdroplet الsize بتعها يبقى usually more than five micron (>5M) يعني لو انا كحيت ادام الشعاع بتاع الprojector هنشوف الdroplet اصغر حاجة للdroplet عشان اسميه droplet (5M). ال5M ده ثقيلة بنسبة للهوا اولا الهوا مش هيقدر يحملها مسافات بعيدة فالdroplet يتفضل في الهوا فترات صغيرة و تبقى transmitted بالair current مسافة لا تزيد عن ثلاثة feet بعد متر بالكثير يعني لو كحيت و واحد قاعد بعد متر ميخفش الdroplet مش هتوصله.

للdroplet حتى لو وصلت فهى كبيرة enough مش هتوصل لل terminal alveoli يحصلها trap في الmucous membrane بتاع الrespiratory tract و هى داخلة عشان كده الdroplet مش هى الوسيلة المعتمدة لنقل الT.B امال ايه هى الوسيلة المعتمدة؟

اهو by air borne transmission ما يعرف بالdroplet nuclei.

لو انا كحيت ديلوقتي و الdroplet وقعت على الارض هتتبخر فما تبقى من droplet حاملة الbacilli بتاعة T.B يبقى اسمه droplet nuclei كأنها nucleus الموجودة جوه الdroplet و اللي يتحمل الorganism او الdroplet لزقت في حبات في تراب الارض فالdroplet حصلها evaporation و الorganism لزق في dust particles .. الdust particles بعد كده لاي سبب اسمه aerosol معناها (الاثر البخاخ).

انته لما بترش perfume يتشم ريحته من على بعد عن بعد ليه؟

لان الperfume droplet بتقعد suspended في الهوا و transmitted لمسافات بعيدة يبقى aerosol معناها solution يحمله الهوا ، و هناخد في اخر جدول في vol.3 يعني ايه air borne و يعني ايه air droplet بداية الsize الdroplet is more than 5M الair borne is less than 5M ديه تتحمل فترات كبيرة و ديه تتحمل فترات صغيرة ديه تتنقل لمسافات بعيدة و ديه تتنقل لمسافات صغيرة و هكذا علشان كده متقلش في الT.Bdroplet و لو غلط و كتبتها حط بعدها nuclei.

inhalation of droplet nuclei carried by air from a patient with open pulmonary يبقى T.B ده واحد من mode of transmission.

الmode التانى المعتمد اللي هو ايه ingestion of infected animal اللي هو M.bovis اللي بيحب الحيوان و بيخرج مع اللبن يعمل intestinal infection طبعا في طرق اخرى بس دول اشهر و اخطر mode of transmission للlocal lesion. ايه اللي هيحصل تعالوا نشوف خطوة خطوة

الdroplet nuclei عشان صغيرة حجما هتبقى inhaled لحد متوصل للterminal alveoli و هناك فيه alveolar macrophage قاعد هناك هيengulf الbacilli حرب دايرة بين الalveolar macrophages و بين الbacilli.

الalveolar macrophage هتعرف تغلب و تقتل شوية من الbacilli اكيد لكن ما تبقى من الbacilli هيقاوموا الintracellular killing و هيmultiplyintracellular و هنا هيقدروا يعيشوا intracellular لسببين:

١- يعمل inhibition للphagolysosomes عشان عندهم sulfolipids و الcell wall بتاعهم بتمنع الfusion بين الphagosome و الlysosome.

٢-لو الfusion حصل الfatty wall اللي في الbacillistill هيعمل resist للkilling effect بتاع الphagocytic cells.

سؤال: كام organism عدوا علينا في المنهج ممكن يعملوا resist للintracellular killing؟

الneisseria و ال gonorrhea ؟ كان عنها boring protein كان بيمنع ال phage lysosome formation فكان بيsuppress الrespiratory burst و كان عندهم catalase بيكسر H2O2. مين تاني علينا الlisteria كان بيكسر bores بتاعة الphagosomes.

ممكن اقولك enumerate organism which can survive intracellularly and mention mechanism؟

اذن يعتبر T.B facultative intracellular و هنا عايز اقولك حاجة كيف نقسم الbacteria او الorganism بشكل عام بعلامتها بالخلايا؟ يعني تعيش فين بره و لا جوه الخلية؟
نقسم لمجموعتين extracellular يبقى قادر انه يعيش خارج الخلايا و لو ابتلع يتقتل بسهولة ، اما intracellular دول نقسمهم لمجموعتين مجموعة نقول كلها strict او obligatory زي all viruses الvirus مش بيقدر يعيش بره الخلايا حتى قلنا بيعيش في الcytosol حتى قلنا all viruses و few bacteria مش وقتهم دلوقتي.
ياما يبقى facultative يعني ايه؟ عنده اختيار اخر معنى انه facultative يعني الاختيار الاول هو extra لكن الاختيار البديل intracellular.
ايه معنى facultative انه مضطر يعيش intracellular لو تم بلعه فلو اتاكل جوه phagocytic cell يعيش جوه الphagosome او يكسر الphagosome و يعيش بره الphagosome مين امثلتنا؟ الT.B و الlisteria كانت برده تقدر تعمل كده.

يبقى هنا اسم الorganism ايه؟ facultative intracellular يعني اصبح عنده بديل انه يعيش intracellular عندما تم بلعه
يبقى facultative intracellular مش facultative anaerobe عشان في ناس بتتلغبط عشان ممكن يلغبطك في ال MCQ في الجزئيه دي

ممكن ييجي يقولك علل ليه TB ممكن يعيش intracellular؟

الاجابه في الparagraphاللي فات على طول
عشان بيمنع الphagolysosome fusion ولو حصل phagolysosome fusion ه still يعيش لأن عنده high lipid content فى ال cell wall تجعله ي resist killing effect

الbacilli accumalating لما الTB يكتر قوي ويقعد يreplicate جوه الخليه هي kill the initial alveolar macrophages طيب ازاي؟
ده في الpathology بيقول لكم معندهوش virlunce factor ؟
عنده thin wall وبعضهم ليه toxic effect على الخلايا اللي يخشها

الorganism هيقعد يقتل alveolar macrophage وكمان يهرب منها ويحصل ايه؟ يتقبض عليه بـmacrophage تانيه وبيقى الوضع على ما هو عليه

Two weeks later الbacilli هيبقوا translated عن طريق ال lymphatic regional lymph node عمالين يقتلوا في الmacrophage عمالين يقتلوا في الmacrophage ويخرجوا منهم المهم هيمشوا في النهايه مع الlymphatic ويوصلوا للregional lymph node

الprimary lesion للمكان اللي حصل فيه الTB مع الlymphatics مع draining lymoh nodes، together هيعملوا ما يعرف بال cohn's complex تفاصيله وملامحه مش بتاعتنا تدرسوها في مناهج اخرى

بعد كده few days later بعد الاسبوعين يعني المريض يعاني من حاجه اسمها transient bactereamia او bacillaemia الorganism هينزل الlymph nodes ويخش على الblood stream وينتشر في الجسم كله ملامح الbacteremia ، دي قصيره مش طويله عشان كده transient وبعد كده الorganism يدور على المكان اللي فيه oxygen عالي عشان هو aerobic عشان كده يروح يتركز في الapices of lung والkidneys في الbones والbrain

وبعد كده يحصل characteristic lesion اللي اسمه granuloma وارجو التركيز في الgranuloma هنقولها بالتفصيل في الimmunology chapter 21 بتاع الhypersensitivity بس عايزك تفهمها من دلوقتي وتفهم الهدف منها

ادي الmacrophage قبض على الorganism جوه الphagosome ورشت عليه مواد toxic وفيه شويه من الbacilli اتقتلوا وفيه هيقاوم ، اللي هيقاوم هيفضل ي survive جوه الخليه

طيب و اللي اتقتلوا ده لولاهم ماكناش عرفنا نستدعي الimmune system
لأن الmacrophage اخد الantigen بتاعه الTB اللي تم القضاء عليها وحطها على الsurface بتاعه طالما الorganism كان vesicular يبقى الantigen بتاعته تعامل معمله الvesicular يبقى هحطها مع MHC I طالما حطها مع class II يبقى هنستدعي T helper cells وعليهم الmarker اللي اسمه CD4 وعندهم Tcell receptor هيقوموا ييجوا بال CD4 هيتعرفوا على class II و T cell receptor هيتعرفوا على الantigens لما الantigen هنا يبقى موجود بكميات كبيره و macrophage كمان تروح قايله لل T helper بالله عليكي خدي شويه IL-12 اهو و تبعن لل NK تقولها بالله عليكي عايزه شويه INF-gamma اهو
التلاته factor اللي اتجمعوا دول IL-12 وINF-gamma وlarge dose of antigen اللي اتحطوا على الخليه خلوا الT helper تمشي في انهي اتجاه Th1
انتو عايزين Th1 ليه؟ عشان نطلع المزيد من INF-gamma ليه ؟ عشان اعما more activation لهذه الmacrophage ده اللي اخدناه في الT cell mediated immune system طيب يقوم نتيجه الcytokine activationده ايه اللي يحصل؟
يقول للmacrophage انتي مش قادره على الorganism نبعت نجبلك قرايبك يساعدوكي قرايبك أولى

بيكي يعني هو انا هتصدرلك و هتخانق لك و قرايبك قاعدين مأنتخين نبعت نجيب المزيد من
الmacrophage اهو يقوم يجو الmacrophage اهو الصعايده وصلوا يمسكوا ايدهم في ايدين بعض
ويتحدوا مع بعض ويعملو giant cells
يبقى عندك في الcenter الinfected cell وحواليها macrophage كتير وبعضهم عمل giant cells
مندمجين multinucleated cells وحواليهم macrophages كبروا في الحجم يبقى اسمهم
epithelioid cells وحواليهم T helper cells علشان يساعدوا ويشجعوا يعني حصل تجميعه معينه
من الخلايا حوالين بعض هنقولها بالتفصيل في الimmunology هذه التجميعه ايه الهدف منها ؟
الهدف منها تطبيق حكمه الimmunology اللي بتقول اللي ماتقدرش تقتله اعزله
والجهاز المناعى عنده قانون الحاجه اللي مقدرش اقتلها اعزلها علشان امنع الspread بتاعها و هو ده اللي
اسمه tubercle على فكره

علشان كده اتسمت الtubercle بـ bacilli علشان بتعمل granuloma اسمها tubercle
اهوالقصة ايه ؟lesion

الorganism بقى كده ايه رأيكم فيه ؟ ده احنا جبنا له مجموعة من الناس يحاوطوه اهو فال organism
قال طاطيطالما فيه عالي كده ، يعني ايه ؟
تـ tolerant الtubercle within these organism

الM.tuberculosisهتـ survive بس in small No. in a dormant state ، كده هسمي الحالة **latent**
tuberculosis infection، طيب كلنا اتعرضنا للـ T. Bتقريبا

الـoutcome

تعالى نشوف الoutcome بتاع هذا الinfection كلنا او معظمنا infected بال T.B ، ما هو مصير
التعرض للـ T.B كل الاحداث اللي حكيتها دي هتحصل فينا كلنا يعني لو ١٠٠ شخص مننا اتعرضوا للـ T.B ٩٠
مننا هتحصل فيهم كل الاحداث اللي فاتت بنفس الترتيب بس مش هيجيلهم manifestation علشان
كده immune system هو اللي تغلب هو اللي عزل الorganism وال organism طاطي للريح وبقى
موجود بكميات قليلة وبقى قاعد dormant هسمي الناس دول بـ **latent tuberculosis infection**
يعني هما already infected بس الorganism قاعد latent

طيب الكلام ده هيكتشفوه ازاي يعني امتى اجي لأي حد فيكوا واعرف انه alreadyاتعرض للorganism
بال tuberculin test، بعد مش اقل من ٤-٦ اسابيع من بداية ال infection يعني لو انا دلوقتي ركبت
ميكروباص وكان حد عنده organism النهاردة لو عملت بكره يطلع negative مش قبل ٦ اسابيع علشان
الاقي الreaction بقى positive المرحلة شبه ايه ؟ خدناها قبل كده منذ التعرض لحد ما يبقى
ال← positive immune response اسمها **مرحلة التحول**AIDS و hepatitis C

في مرحلة اسمها الwindow من بداية التعرض لحد ما الimmune response يستجيب اسمها مرحلة
ال conversion، هي المسافة منذ التعرض للinfection لحد ما الtest scream يبقى positive في
اختبارين، اختبار اسمه tuberculin واختبار اسمه Quantiferonهنقول تفاصلهم الحصةالجايه .

manifestation

المهم اما ١٠% الباقيين هيجيلهم حاجه اسمها tuberculosis diseaseهيجيلهم المرض نفسه، ال organism هو اللي هيovercome الimmune response

وهيحصل manifestation تتراوح من
- malaise يعني يبقى مهمد
- fatigueيتعب بسهولة
- و night sweat
- و low grade fever
- و persistent cough
- واحيانا بيحصل blood sputum ليه ؟ as latent manifestation الorganism او ال disease
- ممكن يحصل في meninges يعمل T.B meningitis
- في lymphatic فال lymph node يعمل lymphadenitis
- و kidney يعمل renal T.B
- ويجي intestine يعمل intestinal T.B

واخدتوا فـ الpathology انه ممكن يـ affect أيorgan ممكن يحصل فيه reaction ؟
ايوه وده اللي بيرعب امريكا واوروبا من الAIDS زي الimmunosuppressionوا immunodeficient او الAIDS بيحصل reactivation للlatent T.B و ٥% مة ٩٠% اياهم usually بيحصل في اول سنتين من التعرض ، أي ضعف في جهاز المناعة تلاقي الorganism يحصلوا activation على طول والشخص يتحول من latent T.B انه يبقى T.B disease

ايه الفرق بين الحالتين الـlatent T.B infection والـ pulmonary T.B disease ؟

- الحالتين الاتنين اتعرضوا لل organism وموجود جوه الجسم
- الاتنين ال skin test أو ال QuantiFERON test بيبقى+ve ، تعالى للفروق بقى :
- لو اخدت sputum من المريض وsputum من الشخص ال infected وزرعناهم هيطلع +ve في المريض اللي عندهpulmonary T.B بس مش في latent infection

طيب و ال manifestation هلاقيها في disease ومش هلاقيها في م اللي حواليهده.

laboratory diagnosis

هناخد جزء من ال laboratory diagnosis، هاخد الجزء اللي انت alreadyاتجهزت ليه ال laboratory diagnosiلل open pulmonary T.B

١- طالما حددتلك من العنوان pulmonary T.B يبقى الsample هتبقى sputum او Broncho alveolar lavage ، طيب هقولكم معلومة وسؤال

ايه المعلومة ←الdischarge بتاع الT.B يبقى intermediate يعني متقطع يعني مش كل sample هتلاقي ال organism ممكن الاقيها في sample والتانية لأ .
يبقى هنا للاحتياط ينصح باخذ 3 early morning sputum sample ، طيب تلات ايام متتالية مفهومة بس early morning ليه ؟
العيان وهو نايم الsecretions بتاعته بتتجمع اول ما يقوم الصبح . مع اول كحة يكحها الصبح اكون مديله sterile container واقوله كح جامد، طيب النهاردة تصادف ان ميكونش عنده الorganism بكره معندوش يمكن بعده يبقى عنده . طيب تلات ايام معندوش خلاص بقى .
-اتعودنا لما ناخد الsample نعمل direct smear صح ؟
هفرد جزء من الsputum sample علىslide وهصبغ هصبغ بايه ؟
يتصبغ ب**ZeihelNeelsen**طيب بنضيفه ازاي افكركم بسرعة بعد لما افرد ال sample على الslide هحط concentrated carbon fuchsinوانت مازلت مطالب بيها في العملي واسخن واسيبها فترة طويلة وهما صحيح يتصبغوا بصعوبة بس once انهم stained بتبقى persist coloration يقوم هت appear pink bacilli in a blue background

في عالم اخر اسمه**Kinyoun** قال معلومة مش مهمة اوي، ده قلد ZeihelNeelsen بالضبط بس استبدل التسخين بال phenol هما الصبغتين نفس الtechnique مع استبدال التسخين في ZeihelNeelsen بال phenol في حالة Kinyoun stain هما الاتنين علشان يسهلو دخول الصبغة وده الفرق الوحيد بين الصبغتين .

ينفع اصبغ بصبغة اخرى ؟
نعم بال flurochrome اللي قلنا عليها اول الحصة ... طيب ال organism فاكرين هيبان ازاي orange yellow bacilli in black background
ايه الفرق بين ZeihelNeelsen و الflurochrome ؟
- الصبغة مختلفة و الmicroscope اللي بدور بيه مختلف ماشي لكن هي الفرق في النتيجة مين فيهم more sensitive technique؟
- يعني مين اللي يمكنك انك تلاحظ ولو bacillus واحد في sample ؟
الflurochrome ليه ؟
مش صعب علينا اننا نشوف bacillus لونه orange في black backgroundواللي عنده أي درجة من درجات عمى الالوان ميقدرش يميز بين اللونين فيZeihelNeelsen

الحصة اللي فاتت اخدنا الـbacillus anthracis جواها spores مصبوغة باحمر يعني الـ bacillusزرقاء والـ spores حمراء
المرة دي الT.B الخلفية زرقاء وال bacillus حمراء، لو معرفتش تميز الاحمر عن الازرق يبقى انت عندك مشكلة في الالوان، اسمي الكلام ده معمليا ان الflurochromeبتبقى more sensitive technique حساس للغاية، طالما بقول عليه sensitive يبقى مش بيفوت حاجة لو فيه bacillus واحد هتشوفه، يوريك اقل عدد من الbacilli بسهولة و more rapid ليه ؟
احنا لما نبص على field هدور عليه على الbacilli الحمرا بضطر اروح بعينه لنقطة نقطة بال field

لكن لو جبت مصبوغ بالflurochrome بشوف على طول فيه ولا لأ علشان كده بستخدمه كأنه screeningلو عندي مريض واحد عايز يكمن على نفسه اصبغ بيه الاول بـ flurochromeابص بسرعة اللي يطلعve- يبقى اكيد ve- لان مفيش حاجة خالص مش بيفوت حاجة .

بس خلي بالك هي less specific لانه ممكن يشخص حالات ve+ وهي مشve+ ، جايز يكون لقطحاجة متطلعشT.B زي شرخ في الslide ممكن اشوف الشرخ بينور او فتلة اتصبغت بال florescent ومتغسلتش كويس هلاقيها بتنور ، اذا احتمال وجود حاجة florescent وتبقىnon specific احتمال وارد .

احل ازاي المشكلة دي؟

لو طلع حاجة بتنور مقدرش اقول ve+ غير لما اعمل ZeihelNeelsen، يعني الاول اعمل flurochromeعلشان ميعديش مني حاجة اللي طلعve- هروحه، طيب واللي ve+ هتأكد بالZeihelNeelsen طيب حلو اوي، طيب لو المريض عنده T.B مش الsmear احتمال تطلع ve+ او -ve؟ وارد ولا لأ .

ايهما افضل للي عنده T.B الfilm يطلع ve+ ولا ve-؟

يبقى لما مريض الT.B يطلع عنده الfilm +ve تحمد ربنا ده هيprovide early diagnosis يبقى شخصته بدري وهتبدأ تعالجه بسرعة وهتحمي الناس اللي حواليه وفي الحالة دي هتبدأ ال patient caseوعلشان كده لما يجيله film ال T.B لازم ابص عليه بسرعة .

لو مريض اتشخص meningitis تبدأ علاجه وتكمل الdiagnosis هبدأ علاجه علشان حالة المريض، الميزة التانية طالما الfilm طلع ve+ هقدر اتتبع مدى استجابة المريض للعلاج يعني مريض عنده T.B وبدأ يتعالج وكل شوية اخد منه film والاقي ال film مبقاش فيهacid fast bacilli اقوله مبروك انت ابتديت تتعافى ,يبقى من ناحية هبدأ علاج سريع ومن ناحية تانية هـ monitor العيان اثناء العلاج .

ملحوظة : يعني اني اشوف acid fast bacilli جايز ميكونش T.B خالص ، جايز يكون member اخر من عيلة ال mycobacterium وده من عيوب ال acid fast bacilli

المشكلة التانية لو ال film طلع ve- مش معناه ان المريض معندوشT.B ، لان جايز يكون ال sampleمفيهاش الorganism او جايز انك تكون اخد حته من ال sample مفيهاش الorganism ، يعني ال film مش كافي ؟

اه مش كافي علشان كده قلنا تشخيص مبدأي يعني امتى احلف ان المريض عنده T.B ؟

بحاجتين:

- بال molecular methods وهي دي طرق الdirect detection، طيب متعملوها ؟

بنعملها ب مقدرش اعملها اختبار عام في الامستشفيات العامة، ليه ؟

غالي جدا ، يتراوح الاختبار من دول من ٤٠٠ الى ٥٠٠ جنيه للاختبار الواحد لكن لو جاله وقادر يعمله يروح يعمله ، هدور على ال DNA ان وجد وهدور على specific gene يميز ال T.B وكمان يميز ال human type عن other members

-يا اما البديل الأسهل ال cultivationعلشان اعملculture قلتلكم عندي مشكلة خطيره الT.B مش جي لوحده في الsample، امال جي معاه مين ؟

جي معاه other flora علشان كده اول مرة نقولك انك قبل ما تزرع الsample لازم تعملهاprocessing

النقطة دي ممكن تتسئل سؤال لوحدها ، يعني ايه processing اعمل يعني اضبط الـ sample اجهزها الاول طيب ازاي ؟
بدي container للمريض يكح ويديني الsputum حلو واحط عليه equal volume من مادتين ، مادة اسمها sodium hydroxide ومادة اسمها N-acetyl L-cysteine واسيبهم فترة كده ثلث ساعة او نص ساعة .

هدفي حاجتين، كلكم عارفين الsputum بيبقى very thick او viscid لزج احيانا تكح نلاقيها كتلة كده ، طيب لما يكون الorganism محبوس جوه الكتلة دي يبقى زرعه صعبة من هنا N-acetyl L-cysteineبيبقى mucolytic فهيliquefy الsampleيقوم يحرر الT.B اللي already قاعد محبوس جوه الsample
اتنين اضافة sodium hydroxide هيموت الnormal flora يبقى بيعمل حاجة اسمها decontamination، اعتمدت في ايه على الخطوة دي ؟ اعتمدت ان تركيب الـ wall بتاع T.B جعلهاmore resistant للـ alkaline يبقى الflora ماتت والـ T.B استحمل واحد يقول بس كده فيه عيب ؟ اقوله ايه يقول عندي عشره bacilli في الsample انت كده خلتهم diluted اوي ، يعني بدل اما

10 bacilli كانوا موجودين مثلا 10mlدلوقتي موجودين في 2mlفي الsample

علشان كده بعمل الخطوة التالتة اللي هي centrifugation علشان اعمل concentration علشان الـ sampleبقت diluted لما ضفت عليها الsolutions دي ، ممكن اسألك ليه بعمل processing بشكل عام يبقى هتقول كله وايه اهمية كل خطوة .

حلو بعد ماتحصل على deposit من عملية الـ centrifugation. هتعمل ايه ؟
اخر حاجة في حصتنا اهو **هنزرع**،
طيب هزرع على ايه ؟ عندي طريقتين للزرع واحدة اخدناها واالتانية هنأجلها للحصة الجاية .

١) الطريقة الاولى للزرع اسمها الconventional method
يعني الطريقة التقليدية اللي هوا بزرع على **Lowenstein Jensen** اللي قلنا عليها في اول الحصة، medium لونه اخضر اهو
لو الMiddlebrooks بتبقىmedium لونها اصفر اهو aerobically incubate في وجود carbon dioxide ٥-١٠% في درجة ٣٧ ° و يطلع في خلال ٢-٨
طالما عندي colony اقدر اعرف انها T.B لاني عملها identification by chemicals بالـ production of niacin او nitrate reduction او الcatalase test.

طيب مينفعش اختصر المسافة ؟ نعم ، ممكن ازرع على fluid medium بـ techniques خاصة اوفر وقت والنتيجة تطلع من ٤-١٤ يوم بالكتير بطريقتين هنعرفهم الحصة الجايه اسمهم fluid medium systems

.